

На правах рукописи

Засадкевич Юлия Михайловна

**РОЛЬ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ E- и P-КАДГЕРИНОВ В
РЕАЛИЗАЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ
РЕГУЛЯЦИИ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА**

14.03.03. – Патологическая физиология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Екатеринбург – 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Государственном автономном учреждении здравоохранения Свердловской области «Центр специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Сазонов Сергей Владимирович

Официальные оппоненты:

Долгих Владимир Терентьевич доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой патологической физиологии ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

Самоделкин Евгений Иванович доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А.Вагнера» Минздрава России

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное военное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства Обороны Российской Федерации

Защита состоится «__»_____2015 г. в __ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 208.102.03, созданного на базе ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. В.И. Климова ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, 17, с авторефератом на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: www.vak2.ed.gov.ru и на сайте университета: www.usma.ru

Автореферат разослан «__»_____2015г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук,

профессор

Базарный Владимир Викторович

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Е- и Р-кадгерины являются молекулами клеточной адгезии, которые локализуются на поверхности эпителиальных клеток и участвуют в образовании адгезионных контактов. Адгезия, опосредованная эпителиальными кадгеринами является динамическим процессом, который регулируется сигнальными механизмами (Skaper S.D., et al, 2001; Halbleib J.M., Nelson W.J., 2006).

Эпителиальные кадгерины играют важную роль в формировании тканей во время гаструляции, нейруляции, гисто- и органогенеза. Кроме того, они необходимы для нормального функционирования органов, выстланных эпителием. Е-кадгерин играет роль в нормальной дифференцировке и поддержании структуры эпителия. Запускаемый при участии Е-кадгерина сигнальный механизм с участием β -катенина считается необходимым для формирования почек молочной железы, расширения протоков и альвеологенеза, а также для поддержания структуры нормальной зрелой молочной железы. Трансмембранный Р-кадгерин, экспрессируемый в миоэпителии, имеет значение в регуляции пролиферации эпителиальных клеток молочной железы (Hatsell S. et al, 2003; Knudsen K.A., Wheelock M.J., 2005; Albergaria A., et al, 2011).

Подавление экспрессии Е-кадгерина приводит не только к снижению прочности межклеточной гомофильной адгезии, способствующей увеличению клеточной подвижности, но и к дезинтеграции Е-кадгерин-катенинового комплекса, в результате которой происходит высвобождение сигнальных молекул, таких как β -, p120-катенины из комплекса и запуск ряда сигнальных путей, главным образом, канонического сигнального пути Wnt и сигнального пути с участием Rho ГТФаз. Активация первого сигнального пути обнаружена при развитии злокачественной опухоли и способствует инвазии опухолевых клеток в соединительную ткань, а также последующую их миграцию, в то время как активация второго сигнального пути обеспечивает подвижность клеток (Blavier L., et al, 2006; Katoh M., 2005; Labelle M., et al, 2008; Perou C.M., et al, 2000). Гиперэкспрессия Р-кадгерина также приводит к дестабилизации нормального комплекса Р-кадгерин/ β -катенин и цитоплазматической экспрессии p120-катенина, что способствует его накоплению в цитоплазме и стимулирует активацию RhoГТФаз, Rac1, Cdc42, обеспечивая клеткам подвижность и способность к миграции (Paredes J., et al, 2007; Paredes J., et al, 2012; Albergaria A., et al, 2011).

Считается, что эпителиальные кадгерины играют существенную роль в патологии, в том числе при развитии рака молочной железы (Делектроская В.В. и соавт., 2005; Kotb A.M., et al, 2011; Rezaei M., et al, 2012; Weigelt B., et al, 2005).

В структуре онкологической заболеваемости рак молочной железы (РМЖ) занимает I место среди женщин экономически развитых стран (Франк Г.А., 2013). Особое значение в прогнозировании выживаемости при РМЖ уделяется раннему выявлению метастазов, которые считаются главной причиной смерти пациенток с данной патологией (Weigelt B., et al, 2005). Метастазирование является многоступенчатым процессом, включающим отделение опухолевых клеток от первичной опухоли, инвазию во внеклеточный матрикс, интравазацию в кровяное русло, распространение с кровотоком, экстравазацию в органы-мишени и формирование метастатических очагов (Makrilla N., et al, 2009; Li D.-M., Feng Y.-M., 2011). Для осуществления этапов инвазии и интравазации опухолевым клеткам необходимо изменить свой гистогенетический тип с эпителиального на мезенхимальный. При этом запускается механизм, известный как эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), осуществляемый и во время нормального эмбрионального развития на этапе формирования мезодермы. Первым этапом ЭМП является снижение экспрессии молекул – маркеров эпителиальных тканей, таких как Е-кадгерин и увеличение экспрессии мезенхимальных маркеров, таких как виментин (Yang J., Weinberg R.A., 2008; Thiery J.P., 2009; Breier G., et al, 2014). При развитии злокачественной опухоли отмечается трансмембранная экспрессия Р-кадгерина, которая в норме присутствует только на мембране миоэпителиальных клеток протоков молочной железы. Считается, что Р-кадгерин участвует в активации ЭМП (Albergaria A., et al, 2011; Baek S., et al, 2010).

Выявление взаимосвязи aberrантной экспрессии эпителиальных Е- и Р-кадгеринов, а также катенинов, необходимой для запуска ряда патологических сигнальных путей, а также виментина, экспрессия которого является следствием активации этих путей является важным аспектом в понимании механизмов, приводящим к развитию и жизнедеятельности злокачественной опухоли (Cowin P., et al, 2005). Не менее важной задачей является выявление регуляторных механизмов, активированных эпителиальными кадгеринами и образуемыми ими кадгерин-катениновыми комплексами, влияющих на опухолевый рост.

Полученные данные по экспрессии эпителиальных кадгеринов и связанных с ними молекул часто отличаются и интерпретируются по-разному. С одной стороны, это может быть связано с отсутствием единой системы оценки данных показателей (Brzozowska A. et al, 2011; Popescu C.I., et al, 2013), с другой, с гетерогенностью рака молочной железы, подтипы которого отличаются по рецепторному статусу, имеют разные биологические свойства и клиническое течение. В связи с этим, считается целесообразным изучать экспрессию вышеуказанных показателей в разных иммуногистохимических группах рака молочной

железы, учитывающих особенности конкретных подтипов (Семиглазов В.Ф. и соавт., 2013; Сазонов С.В., 2014).

В связи с выше изложенным, изучение роли эпителиальных Е- и Р-кадгеринов в регуляции внутриклеточных механизмов развития злокачественной опухоли с разным рецепторным статусом, а также ее метастазирования, является актуальной научной задачей.

Цель исследования

Оценить роль молекул клеточной адгезии Е-, Р-кадгеринов, а также кадгерин-катениновых комплексов в реализации внутриклеточных механизмов развития злокачественной опухоли.

Задачи исследования

1. Изучить особенности экспрессии эпителиальных кадгеринов и ассоциированных с ними β - и p120-катенинов в эпителиальной и миоэпителиальной тканях протоков молочной железы.
2. Оценить изменение экспрессии эпителиальных Е- и Р-кадгеринов, а также ассоциированных с ними молекул β - и p120-катенинов в активации внутриклеточных механизмов изменения клеточного фенотипа при развитии разных иммуногистохимических подтипов инвазивного долькового рака молочной железы.
3. Определить признаки реализации эпителиально-мезенхимального перехода при развитии инвазивного долькового рака молочной железы.
4. Выявить особенности экспрессии эпителиальных кадгеринов, ассоциированных с ними β - и p120-катенинов, а также виментина при метастазировании инвазивного долькового рака молочной железы разных иммуногистохимических подтипов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Эпителиальные Е- и Р-кадгерины играют важную роль в поддержании межклеточной адгезии эпителиальной и миоэпителиальной тканей, а также участвуют в реализации каскада сигнальных путей, необходимых для нормального функционирования эпителия и развития злокачественной опухоли.
2. При развитии эпителиальной опухоли отмечается коэкспрессия Е- и Р-кадгеринов, высвобождение β -, p120-катенинов из кадгерин-катениновых комплексов, запуск сигнального пути Wnt, приводящего к увеличению пролиферации и инвазии клеток опухоли, а также сигнального пути с участием RhoГТФаз, приводящего к увеличению подвижности и миграции опухолевых клеток.
3. В результате внутриклеточных механизмов, активированных Е- и Р-кадгеринами, запускается эпителиально-мезенхимальный переход, который сопровождается

экспрессией виментина в цитоплазме опухолевых клеток и способствует увеличению их подвижности.

4. Высвобождение β - и p120-катенинов запускает процесс метастазирования, при формировании региональных метастазов экспрессия указанных молекул снижается. При увеличении подвижности опухолевых клеток, активации их миграции, инвазии и формировании региональных метастазов в клетках опухоли увеличивается экспрессия Р-кадгерина и виментина.

Научная новизна исследования

Впервые проведено комплексное исследование эпителиальных кадгеринов и ассоциированных с ними молекул, участвующих в канцерогенезе, при разном рецепторном статусе клеток опухоли на модели разных иммуногистохимических подтипов инвазивного долькового рака молочной железы.

Выявлено значение экспрессии Е- и Р-кадгеринов, а также формируемых ими кадгерин-катениновых комплексов в регуляции опухолевого роста при инвазивном дольковом раке молочной железы.

Обнаружены признаки изменения фенотипа клеток опухоли и реализации эпителиально-мезенхимального перехода, реализуемого при развитии опухоли.

Показано, что при развитии опухоли наблюдается появление коэкспрессии Е- и Р-кадгеринов, высвобождение молекул β - и p120-катенинов из кадгерин-катениновых комплексов, что приводит к активации внутриклеточных механизмов регуляции процессов развития метастазирования, проявляющихся в запуске эпителиально-мезенхимального перехода, активация которого сопровождается появлением экспрессии виментина в цитоплазме опухолевых клеток.

Научно - практическая значимость работы

Результаты исследований могут быть использованы для понимания ряда внутриклеточных механизмов регуляции развития опухолевого роста.

Полученные данные позволяют выявить прогностически значимые параметры экспрессии эпителиальных кадгеринов, β - и p120-катенинов, а также виментина, характерные для метастазирования злокачественной опухоли.

Включение в панель иммуногистохимического исследования определения экспрессии Е-, Р-кадгеринов, β - и p120-катенинов, а также виментина позволит выявлять предрасположенность опухоли к метастазированию на ранних стадиях развития злокачественной опухоли.

Апробация работы

Научная работа апробирована на заседаниях кафедры патологической физиологии, а также гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Екатеринбург, 2013, 2014, 2015); VII Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2013), Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (Екатеринбург, 2013), XXV Европейском конгрессе патологов (Лиссабон, Португалия, 2013), Европейском онкологическом конгрессе (Амстердам, Нидерланды, 2013), Международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2014), XXIII Конгрессе Европейской ассоциации исследования рака (Мюнхен, Германия, 2014), XVIII Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2014), Всероссийском научном форуме «Учение о тканях. Гистогенез и регенерация» (Санкт-Петербург, 2015), Петербургском онкологическом форуме «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2015).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 26 научных работ, в том числе 13 в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов докторских и кандидатских диссертаций.

Внедрение в практику

Результаты диссертационной работы используются при научных исследованиях в лаборатории патоморфологии ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, в учебном процессе кафедры патологической физиологии, а также кафедры онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Екатеринбург), кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО ЮУФГМУ Минздрава России (г. Челябинск), патоморфологической и цитологической лабораторий ГБУЗСО «Свердловский областной онкологический диспансер» (г. Екатеринбург). Получены патент на промышленный образец № 91079 от 16.12.2014 г., приоритетная справка на промышленный образец № 215500282 от 02.02.2015 г.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 152 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав с описанием материала и методов исследования, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, списка литературы и списка

иллюстративного материала. Работа содержит 24 таблицы и 62 рисунка. Список литературы содержит 171 источник, включая 68 отечественных и 103 зарубежные работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование проводилось на базе лаборатории иммуногистохимии ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» (г. Екатеринбург). Предметом исследования являлся операционный материал пациенток с диагнозом инвазивный дольковый рак молочной железы, который направлялся из ГБУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер» и Городского маммологического центра при ГАУЗ СО «Городская клиническая больница №40» (г. Екатеринбург).

Исследованы 250 случаев инвазивного долькового рака молочной железы. В контрольную группу вошло 30 случаев, взятых от пациенток с разными диагнозами, исключаящими рак молочной железы, в пределах здоровой ткани молочной железы. Во всех случаях иммуногистохимическим методом определялась экспрессия молекул клеточной адгезии Е-кадгерина, Р-кадгерина, β -катенина, p-120 катенина и виментина (Боброва Т.С., Чуев Ю.В., 2006; Коган Е.А. и соавт., 2010).

Диагноз инвазивного долькового рака молочной железы подразумевает, что опухоль развилась из эпителиальной ткани, но не из миоэпителиальных клеток. Для подтверждения эпителиальной природы рака молочной железы проводилось иммуногистохимическое исследование с маркером эпителиальных клеток – цитокератином (Cytokeratin Cocktail). Для исключения миоэпителиальной природы опухоли проводилась иммуногистохимическое исследование с цитокератином 5 типа, относящимся к высокомолекулярным цитокератинам, которые являются маркерами миоэпителиальных клеток (Франк Г.А., Завалишина Л.Э. и соавт., 2014; Lakhani S.R., Ellis I.O. et al, 2012).

В связи с гетерогенностью рака молочной железы (Семиглазов В.Ф. и соавт., 2013), а также для выявления особенностей экспрессии кадгеринов и ассоциированных с ними молекул, проводилось распределение всех отобранных случаев по подтипам, основанное на иммуногистохимическом определении рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR), эпидермального фактора роста 2 (HER-2/neu) и маркера клеточной пролиферации (Ki-67) – табл.1 (Cheang M.C.U., et al, 2009; Семиглазов В.Ф. и соавт., 2013).

Материал отобранных групп исследовался гистологическим, иммуногистохимическим и статистическим методами.

Таблица 1

Распределение случаев инвазивного долькового рака молочной железы по подтипам согласно иммуногистохимической классификации (рекомендации ASCO/CAP, Hammond M.E., et al, 2010; Wolff A.C., et al, 2007).

Биологический подтип	Количество случаев
Все случаи	250
Люминальный А	50
Люминальный В (HER-2 негативный)	50
Люминальный В (HER-2 позитивный)	50
Erb-B2 сверхэкспрессирующий	50
Базальноподобный	50

Гистологический метод

Материал фиксировался, заливался в растворе нейтрального формалина в течение 1-2 суток, затем осуществлена его проводка по спиртам, после чего материал был залит в парафиновые блоки (Калантарли С.С., Мацко Д.Е., 2012). Изготовление гистологических срезов толщиной 4 мкм осуществляли на ротационном микротоме Microm HM340 (MICROM, Германия) с системой переноса срезов. После депарафинизации производили гистологическую окраску с помощью гематоксилина Майера и эозина.

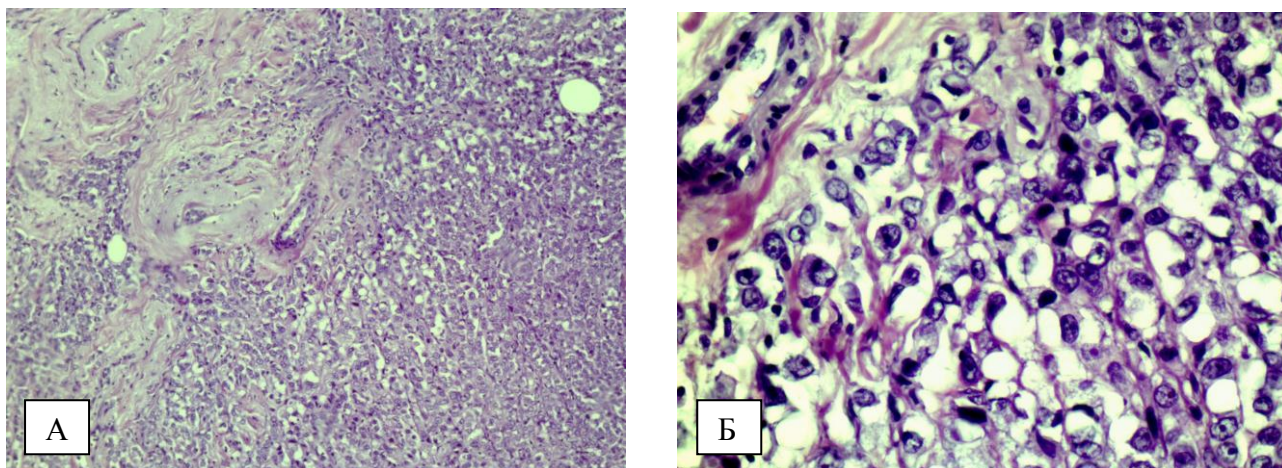


Рисунок 1. Инвазивный дольковый рак молочной железы, X100 (А), X400 (Б). Окраска гематоксилином Майера и эозином

Патологоанатомический диагноз инвазивного долькового рака молочной железы с указанием стадии по классификации TNM выставлялся врачом – патологоанатомом в патоморфологической лабораторий ГБУЗСО «Свердловский областной онкологический диспансер» (заведующая лабораторией Казанцева Н.В.) – рис.1.

Иммуногистохимический метод

Иммуногистохимические исследования проводились с использованием автоматических систем окрашивания Ventana (США) и DAKO (Дания). Для определения экспрессии Е-кадгерина использовались кроличьи моноклональные античеловеческие антитела E-cadherin (Clone EP700Y, Cell Marque, США), β -катенина - мышинные моноклональные античеловеческие антитела β -catenin (Clone 14, Ventana, США), p120 катенина - мышинные моноклональные античеловеческие антитела p120 catenin (Clone 98, Ventana, США), Р-кадгерина – мышинные моноклональные античеловеческие антитела P-cadherin (Clone 56C1, Monosan, Нидерланды), виментина - мышинные моноклональные анти-свиные антитела Vimentin (Clone V9, DAKO, Дания). Определение экспрессии HER-2/neu на клетках опухоли осуществлялось с помощью кроличьих моноклональных антител c-erb-2/HER-2 (Clone 4B5, Ventana, США). Для определения ядерного индекса пролиферации опухоли использовались кроличьи моноклональные античеловеческие антитела KI-67 Antigen (Clone SP6, Spring Bioscience, США), рецепторов эстрогена и прогестерона на ядрах клеток опухоли с помощью кроличьих моноклональных античеловеческих антител Estrogen Receptor (Clone SP1, Spring Bioscience, США), Progesterone Receptor (Clone SP2, Spring Bioscience, США). Для определения экспрессии цитокератинов опухолевыми клетками использовались мышинные моноклональные антитела Cytokeratin Cocktail AE1& AE3 (DSC, Германия) и кроличьи моноклональные антитела Cytokeratin 5 (Clone EP1601Y, Cell Marque, Нидерланды).

Оценка иммуногистохимического окрашивания осуществлялась полуколичественным методом. Экспрессия Е-кадгерина оценивалась как положительная при окрашивании $\geq 70\%$ мембран исследуемых клеток (Kowalski P.J., et al, 2003) – рис.2. Наличие экспрессии Р-кадгерина определялось при мембранном окрашивании $>10\%$ опухолевых клеток (Vieira A.F., et al, 2012; Faria G., et al, 2012; Paredes J., et al, 2005; Paredes J. et al, 2002). Экспрессия мезенхимального маркера виментина расценивалась как положительная при позитивном цитоплазматическом окрашивании $>1\%$ опухолевых клеток (Korsching E., et al, 2005; Rezaei M. et al, 2012). Ядерная транслокация β -катенина оценивалась по окрашиванию ядер опухолевых клеток, в то время как цитоплазматическая экспрессия – по окрашиванию цитоплазм клеток опухоли. Ядерная экспрессия β -катенина считалась положительной при окрашивании хотя бы одной опухолевой клетки в поле зрения (Ng T.L., et al, 2005), цитоплазматическая – при окрашивании $>10\%$ клеток опухоли (Ikeda S., et al, 2006). Мембранное окрашивание β -катенина не учитывалось. Цитоплазматическая транслокация p120-катенина определялась по окрашиванию цитоплазм опухолевых клеток, при этом мембранное окрашивание p120-катенина не учитывалось. Экспрессия p120-катенина

считалась положительной при цитоплазматическом окрашивании >10% опухолевых клеток (Liu Y., et al, 2009; Sarrío D., et al, 2004). Уровень ядерной экспрессии ER и PR на клетках карциномы оценивали по шкале от 0 до 8 (Allred D.S., et al, 1998; Hammond M.E., et al, 2010). Оценка уровней мембранной экспрессии HER-2/neu опухолевыми клетками производилась по шкале от 0 до 3+ (Bilous M., et al, 2003; Wolff A.C., et al, 2007). Уровень маркера пролиферации клеток опухоли Ki-67 определяли по процентному отношению числа окрашенных ядер опухолевых клеток ко всем клеткам рака молочной железы (%). В каждом случае просчитывали не менее 600 опухолевых клеток (Jalava P., Kuorio T., 2006). Экспрессия цитокератинов опухолевыми клетками оценивалась как положительная при мембранном окрашивании клеток опухоли (Clarke C.L., et al, 2004).

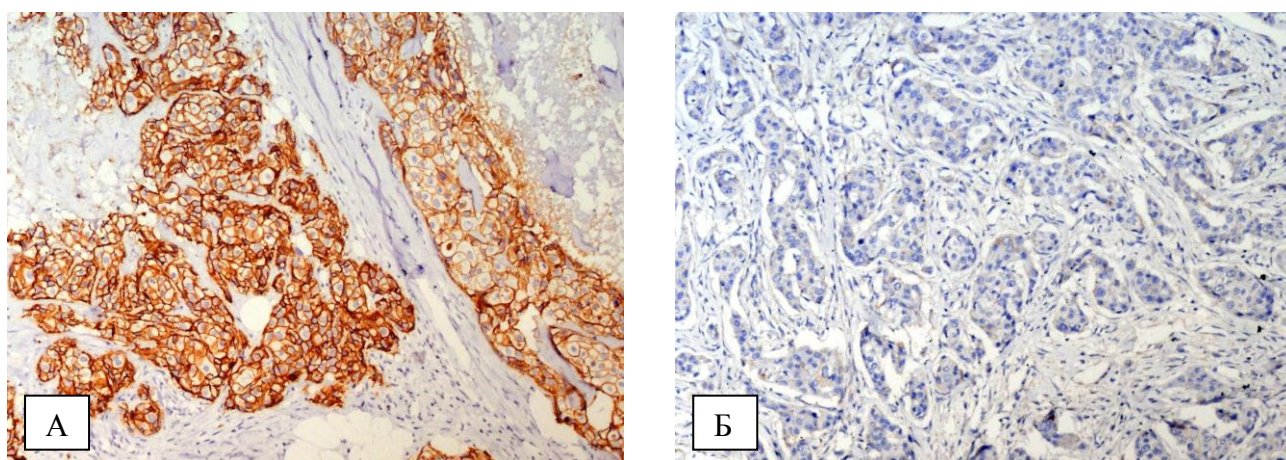


Рисунок 2. Наличие (А) и отсутствие (Б) экспрессии Е-кадгерина при инвазивном раке молочной железы, X100. Окраска: ИГХ реакция HRP/DAB, докраска ядер - гематоксилин Майера

Статистический анализ данных проводился согласно общепринятым методам (Zar J.H., 2010, Герасимов А.Н., 2007; Зайцев В.М. и соавт., 2006) с использованием лицензионных программ «StatSoft Statistica Base 12» и «MS Excel 2010». Для выявления достоверности различий между двумя выборками применялся критерий χ^2 (Хи-квадрат) Пирсона. Для корреляционного анализа исследуемых групп параметров применялся коэффициент сопряженности Крамера (V), используемый для определения взаимосвязи номинальных признаков.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

В работе изучены особенности экспрессии молекул клеточной адгезии Е-, Р-кадгеринов и ассоциированных с кадгеринами молекул β -, p120-катенинов, а также виментина в эпителиальных клетках интактной ткани молочной железы и при различных иммуногистохимических подтипах инвазивного долькового рака молочной железы.

Исследован материал 30 случаев млечных протоков интактной молочной железы. Во всех случаях выявлена экспрессия Е-кадгерина на мембранах клеток однослойного кубического эпителия и Р-кадгерина – на мембранах миоэпителиальных клеток. Экспрессия β - и p120-катенинов выявлена на мембранах эпителиальных и миоэпителиальных клеток во всех случаях. Экспрессия виментина эпителиальными и миоэпителиальными клетками не обнаружена. Таким образом, в ткани молочной железы экспрессируются два типа эпителиальных кадгеринов: Е- и Р-кадгерины. Это обеспечивает формирование двух функционально различающихся слоев в эпителии протоков и концевых отделов молочной железы. β - и p120-катенины в норме экспрессируются на мембране эпителиальных и миоэпителиальных клеток, обеспечивая формирование кадгерин-катениновых комплексов, которые стабилизируют структуру эпителия за счет связи с актиновым цитоскелетом, а также участвуют в ряде внутриклеточных сигнальных каскадов, способствуя пролиферации и дифференцировке эпителиальных клеток молочной железы.

Изучив 250 случаев инвазивного долькового рака молочной железы, в 93% было обнаружено сохранение экспрессии Е-кадгерина на мембране опухолевых клеток, который в большинстве случаев не исчезает при опухолевой трансформации клеток. Несмотря на сохранение экспрессии Е-кадгерина, в данной группе исследования выявлена цитоплазматическая экспрессия β -катенина в 60% случаев, а также p120-катенина в 72% случаев (рис.3).

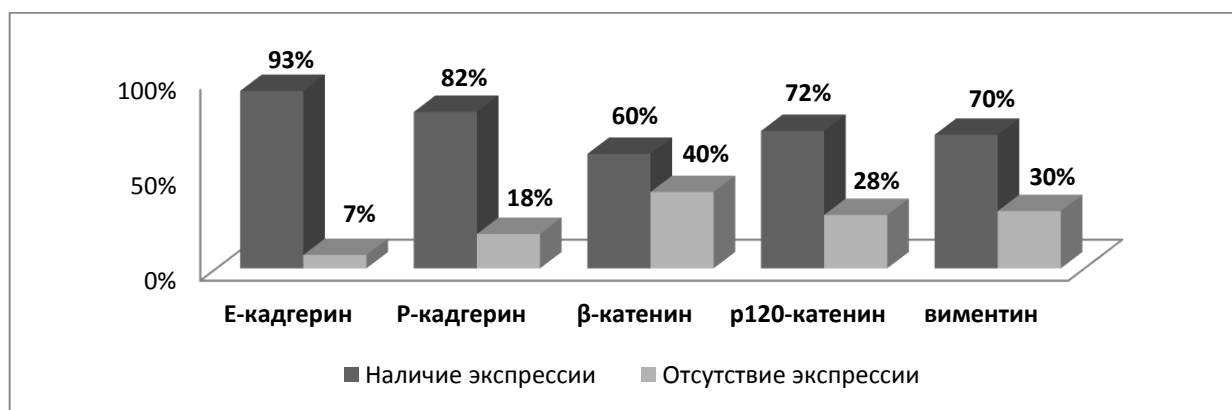


Рисунок 3. Экспрессия Е-кадгерина, Р-кадгерина, β -катенина, p120-катенина и виментина при инвазивном дольковом раке молочной железы

Цитоплазматическая локализация указанных молекул необходима для запуска сигнального пути Wnt, результатом реализации которого является увеличение пролиферации, инвазии, резистентности клеток опухоли, а также активации сигнального пути с участием RhoGTPаз, приводящего к полимеризации актина и развитию ламеллиподий, обеспечивающих клеткам опухоли способность к подвижности и миграции.

Также выявлена экспрессия виментина, являющегося маркером реализации эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) в 70% случаях (рис.3), что свидетельствует о том, что большинство опухолевых клеток приобретают способность к подвижности, характерную в норме только для клеток мезенхимальной природы. Проведен корреляционный анализ между экспрессией Е-кадгерина и ассоциированными с ним молекулами β - и p120-катенинов, а также виментина, в результате которого не выявлено достоверно значимых взаимосвязей. Обнаружена отрицательная корреляционная связь между экспрессией p120-катенина и наличием регионарных метастазов, что свидетельствует о том, что p120-катенин начинает экспрессироваться в цитоплазме при отсутствии метастазов, а при их появлении его цитоплазматическая экспрессия уменьшается. По всей вероятности, p120-катенин участвует в запуске механизмов, приводящих к метастазированию, и способствует их развитию.

Механизм, приводящий к исчезновению Е-кадгерина на мембране опухолевых клеток в 7% случаев, по видимому, связан с активацией ЭМП, в результате которого в ядре опухолевых клеток активируются таргетные гены, блокирующие ген Е-кадгерина CDH1, ответственного за синтез Е-кадгерина на мембране клеток. Кроме того, при активации ЭМП, в 70% случаев начинается синтез белка промежуточных филаментов виментина. При этом происходит изменение организации актинового цитоскелета, способствующее повышенной подвижности и миграции клеток опухоли.

Таким образом, для большинства случаев РМЖ характерен неполный ЭМП, при котором опухолевые клетки сохраняют некоторые свойства межклеточной адгезии эпителиальных клеток, но при этом дополнительно приобретают свойства мезенхимальных клеток. Это означает, что опухолевые клетки с неполным ЭМП приобретают способность к клеточной миграции, являющейся основой последующего метастазирования клеток опухоли.

Нами изучена экспрессия Р-кадгерина, который является звеном межклеточной адгезии в миоэпителии, и в норме не экспрессируется в эпителиальных клетках протоков и концевых отделов молочной железы. Отсутствие экспрессии Р-кадгерина, характерного для нормального статуса эпителия молочной железы, выявлено только в 18% случаев РМЖ, т.е. в большинстве случаев обнаружено появление aberrантной экспрессии Р-кадгерина на клетках опухоли (рис.3). Механизмы, объясняющие данный процесс, на сегодняшний день не изучены, но, по всей видимости, аналогичны механизмам, реализующимся во время эмбриогенеза, на определенных стадиях которого отмечается экспрессия Р-кадгерина в тканях экто- и энтодермального происхождения, в том числе эпителии протоков и концевых почках формирующейся молочной железы. Предполагают, что aberrантная экспрессия Р-кадгерина связана с отсутствием эстрогена и рецепторов к эстрогену. Активация

эстрогенового сигнального пути блокирует в ядре опухолевых клеток ген CDH3, ответственный за синтез Р-кадгерина. При отсутствии эстрогена, эстрогеновый сигнальный путь не реализуется, и Р-кадгерин начинает экспрессироваться на мембране опухолевых клеток (Harris T., 2012). При исследовании иммуногистохимических подтипов инвазивного долькового рака молочной железы с отсутствием экспрессии ER, был отмечен высокий уровень экспрессии Р-кадгерина: 80% случаев при подтипе с отсутствием рецепторов к эстрогену и прогестерону, наличием рецепторов HER-2/neu в опухолевых клетках (Erb-B2 сверхэкспрессирующий подтип) и 88% при подтипе с отсутствием рецепторов к эстрогену, прогестерону и HER-2/neu в опухолевых клетках (базальноподобный подтип). Однако, Р-кадгерин экспрессировался и во всех случаях опухолей с наличием экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону, а также отсутствием экспрессии рецептора HER-2/neu и высоким уровнем пролиферации (индекс пролиферации Ki-67 $\geq 20\%$) опухолевых клеток (Люминальный В (HER-2 негативный) подтип) – табл.2.

Таблица 2

Экспрессия Р-кадгерина на клетках опухоли в разных иммуногистохимических подтипах инвазивного долькового рака молочной железы

Биологический подтип	Количество случаев	Экспрессия Р-кадгерина, n (%)
Люминальный А	50	46 (92%)*
Люминальный В (HER-2 негативный)	50	25 (50%)*
Люминальный В (HER-2 позитивный)	50	50 (100%)*
Erb-B2 сверхэкспрессирующий	50	40 (80%)
Базальноподобный	50	44 (88%)*

* $p < 0,05$, при сравнении с общей группой

Данный результат может быть объяснен конкурентным участием рецепторов ER α и HER-2/neu в сигнальном пути с участием MAPK и Akt, которые могут фосфорилировать отдельные участки ER α и приводить к его лиганд-независимой активации (Shou J., et al, 2004). В присутствии HER-2/neu, последний запускает механизмы с участием указанных молекул, и активации ER, запускающего эстрогеновый сигнальный путь, не происходит, а значит, ген CDH3, ответственный за экспрессию Р-кадгерина, не блокируется (рис. 4). В группе опухолей с наличием экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону, а также отсутствием экспрессии рецептора HER-2/neu и низким уровнем пролиферации (индекс пролиферации Ki-67 < 20%) опухолевых клеток (Люминальный А подтип), экспрессия Р-кадгерина была также высокая, что означает, что эстрогеновый сигнальный путь в данной группе опухолей также блокируется, но за счет других механизмов. Механизм блокирования

активированным эстрогеновым сигнальным путем экспрессии Р-кадгерина, по всей видимости, реализуется в большей степени в группе инвазивного долькового рака молочной железы подтипа Люминальный В (HER-2 негативный), где уровень выявления экспрессии Р-кадгерина был достаточно низкий (50%) по сравнению с общей группой и остальными группами исследования (уровень выявления экспрессии Р-кадгерина >80%).

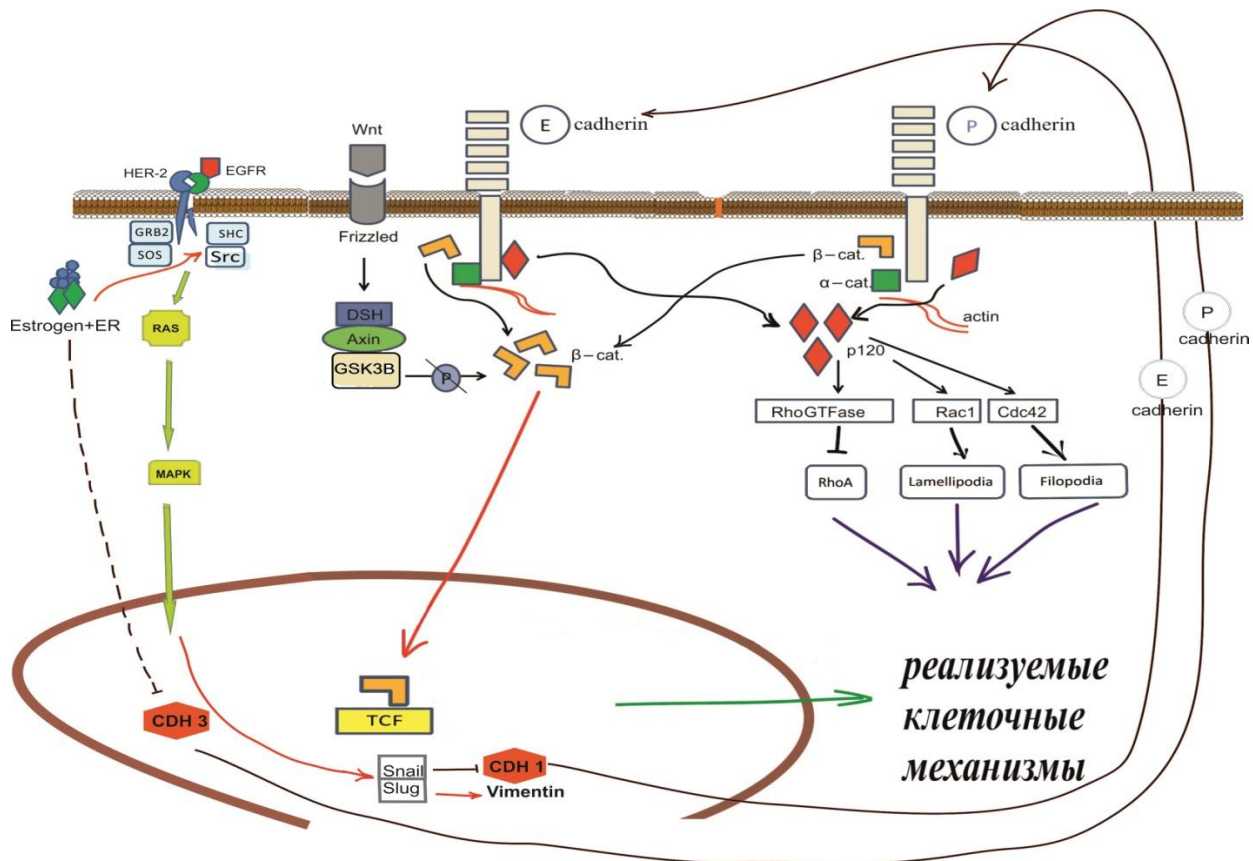


Рисунок 4. Механизмы, регулирующие экспрессию E- и P-кадгеринов опухолевыми клетками

На опухолевых клетках с наличием экспрессии Р-кадгерина выявлена цитоплазматическая экспрессия β-катенина в 53% случаев, p120-катенина в 61% случаев. Наличие регионарных метастазов опухоли в лимфоузлах обнаружено в 32% случаев.

Коэкспрессия E- и P-кадгерина отмечалась в 90% всех исследуемых случаев. Кроме того, выявлена взаимосвязь E- и P-кадгеринов как в общей группе исследования, так и в отдельно исследуемых группах. По данным ряда авторов, одновременная экспрессия обоих указанных кадгеринов связана с повышенной резистентностью клеток опухоли к различным воздействиям, в том числе и химическим, и запуском процесса метастазирования клеток. Клеточные механизмы, объясняющие такие результаты, на сегодняшний день остаются невыясненными (Ribeiro A.S., et al, 2013; Paredes J., et al, 2012).

E- и P-кадгерин связаны в комплексы с β- и p120-катенинами, а также белком актином, участвующим в формировании цитоскелета клеток. В норме, экспрессия β- и p120-катенинов

отмечается исключительно на мембране эпителиальных клеток. Появление указанных молекул в цитоплазме свидетельствует об их высвобождении из кадгерин-катениновых комплексов, где они инициируют каскад сигнальных путей. При изучении 250 случаев инвазивного долькового рака молочной железы нами выявлена цитоплазматическая экспрессия β -катенина в 60%, p120-катенина в 72% случаев. При попадании в цитоплазму, β -катенин в норме должен утилизироваться убиквитин-протеосомами при участии молекулы GSK-3 β , и его экспрессия не должна наблюдаться при иммуногистохимическом исследовании. Цитоплазматическая экспрессия β -катенина означает, что его утилизации не происходит. Это объясняется активацией сигнального пути Wnt, который блокирует активность GSK-3 β и тем самым препятствует утилизации β -катенина, который транслоцируется в ядро и активирует ряд таргетных генов группы LEF/TCF, приводящих к синтезу виментина, а также Slug и Snail, блокирующих синтез E-кадгерина. Таким образом, активируется эпителиально-мезенхимальный переход (рис.4). В группе Люминального В подтипа (HER-2 позитивный) была отмечена самая низкая частота экспрессии β -катенина (32%) и p120-катенина (52%) по сравнению с общей группой и другими группами исследования (экспрессия β -катенина > 62%, p120-катенина >72% в остальных группах исследования). При этом aberrантная экспрессия E-кадгерина была низкой (4%), в то время как гиперэкспрессия P-кадгерина отмечалась во всех случаях. Таким образом, в данной группе исследования достоверно реже происходило высвобождение молекул β - и p120-катенинов из P-кадгерин-катениновых комплексов, и aberrантные сигнальные пути, приводящие к увеличению миграции, подвижности, инвазии, повышению резистентности и выживаемости клеток опухоли, запускались реже, что, однако, не связано со снижением числа случаев с регионарными метастазами в данной группе по сравнению с другими группами исследования. Повышенная инвазия клеток опухоли, способствующая их метастазированию, может определяться индукцией P-кадгерином секреции MMP1 и MMP2, которая приводит к высвобождению внеклеточного домена, обладающего проинвазивной активностью (Makrilla N., et al, 2009; Paredes J., et al, 2012; Albergaria A., et al, 2011). Кроме того, при инвазивном дольковом раке молочной железы подтипа с наличием экспрессии рецепторов к эстрогену, прогестерону, а также HER-2 (Люминальный В (HER-2 позитивный) подтип), в клетках которого значительно реже происходит разрушение P-кадгерин-катениновых комплексов, не активируется молекула GSK-3 β , высвобождаемая сигнальным путем Wnt, который запускается свободным β -катенином. Указанная молекула способствует фосфорилированию молекулы Snail и ее цитоплазматической транслокации, что является одним из факторов, активирующих ЭМП (Lee J.M., et al, 2006; Yang J., Weinberg R.A., 2008).

Одним из проявлений реализации ЭМП, является появление аберрантной цитоплазматической экспрессии виментина клетками опухоли, которая реже встречается в группе данного иммуногистохимического подтипа (44%) по сравнению с другими группами исследования и с общей группой, в которых экспрессия виментина обнаружена в >56% исследованных случаев.

При изучении иммуногистохимических подтипов инвазивного долькового рака молочной железы выявлена прямая взаимосвязь между всеми изучаемыми параметрами: экспрессией E-, P-кадгеринов, β - и p120-катенинов в группах случаев Люминального A и Erb-B2 сверхэкспрессирующего подтипов, прямая взаимосвязь между экспрессией P-кадгерина и p120-катенина в группе случаев Базальноподобного подтипа, а также между экспрессией β - и p120-катенинов в группе случаев Базальноподобного и Люминального B (HER-2 позитивный) подтипов. Полученные результаты свидетельствуют о взаимосвязанном последовательном каскаде, запускаемым появлением экспрессии P-кадгерина с последующей цитоплазматической транслокацией β - и p120-катенинов, приводящей к активации описанных выше сигнальных путей. В результате реализации канонического сигнального пути Wnt, а также ряда других сигнальных путей, подробно не изучаемых в данной работе, в ядре опухолевых клеток активируются таргетные гены, приводящие к запуску ЭМП и блокированию гена CDH1, ответственного за синтез E-кадгерина. Но, как было показано выше, чаще всего реализуется неполный ЭМП, при котором экспрессия E-кадгерина не блокируется таргетными генами, и данная молекула продолжает экспрессироваться на мембране опухолевых клеток.

Таблица 3

Взаимосвязь между эпителиальными кадгеринами, ассоциированными с ними молекулами и рецепторным статусом Люминального B (HER-2 негативный) подтипа инвазивного долькового рака молочной железы

	Е-кадгерин	Р-кадгерин	β -катенин	p120-катенин	виментин
Р-кадгерин	0,17				
β -катенин	0,34*	0,15			
p120-катенин	-0,33*	-0,63*	-0,14		
виментин	0,25	0,29	0,26	-0,55*	
ER	-0,12	0,23	-0,17	0,02	-0,35
PR	-0,26	0,08	0,12	-0,25	0,1
HER-2	-	-	-	-	-
Ki-67	-0,46*	-0,09	-0,38*	0,31*	-0,5*

* p<0,05

Отличающиеся от описанных выше результаты получены для группы опухолей Люминального В (HER-2 негативный) подтипа, для которой была выявлена прямая связь между экспрессией Е-кадгерина и β -катенина, но при этом обратная связь между экспрессией Е-кадгерина и p120-катенина, а также Р-кадгерина и p120-катенина (табл.3). Данная группа опухолей отличается от остальных групп относительно большим числом случаев с измененной экспрессией Е-кадгерина и относительно низким числом случаев с измененной экспрессией Р-кадгерина (рис.5). Причем, в этой группе не выявлено взаимосвязи между экспрессией Е- и Р-кадгеринов.

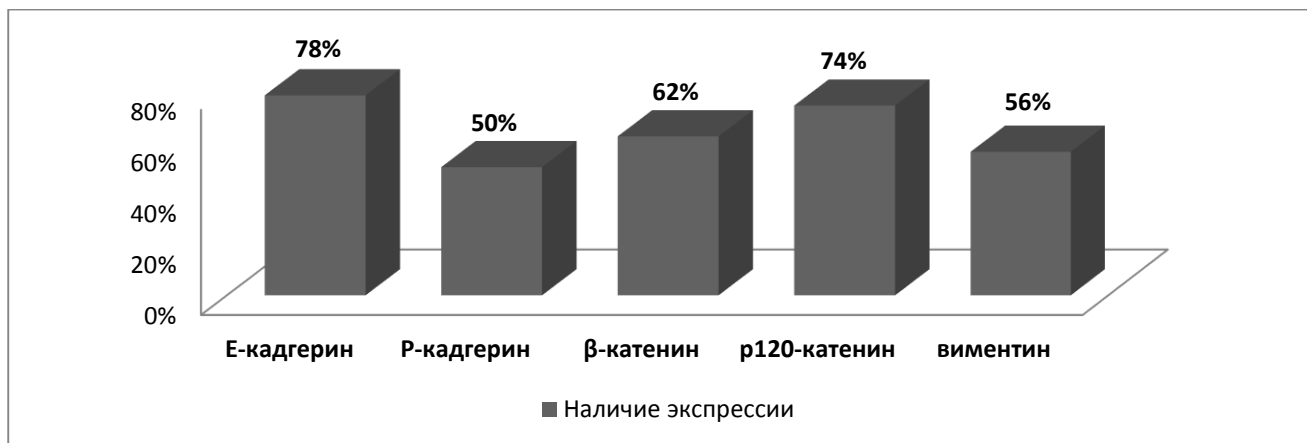


Рисунок 5. Экспрессия эпителиальных кадгеринов и ассоциированных молекул при инвазивном дольковом раке молочной железы подтипа Люминальный В (HER-2 негативный)

Можно предположить, что в данной группе опухолей, снижение экспрессии Е-кадгерина происходит главным образом, за счет механизмов, отличающихся от реализующихся при других иммуногистохимических подтипах. Как упоминалось выше, таким механизмом может быть эстрогеновый сигнальный путь, при котором происходит активация ER α транскрипционных факторов Snail и Slug, подавляющих экспрессию Е-кадгерина (Oesterreich S., et al, 2003; Park S.H., et al, 2008).

Изучена экспрессия эпителиальных кадгеринов и ассоциированных катенинов в группах с наличием и отсутствием регионарных метастазов. Исследовано 208 случаев инвазивного долькового рака молочной железы. Из них, 127 случаев (61%) относились к стадии N0, 56 случаев (27%) – к стадии N1, 25 случаев (12%) – к стадии N2.

Отсутствие экспрессии Е-кадгерина, появление цитоплазматической экспрессии β -катенина и p120-катенина выявлены в опухолях при отсутствии регионарных метастазов (табл.4). Активация ряда сигнальных путей указанными молекулами приводит к увеличению подвижности, миграции, инвазии, резистентности, выживаемости и пролиферации опухолевых клеток, а также к реализации ЭМП, что, в конечном итоге, сопровождается

развитием метастазов. Изменение экспрессии Е-кадгерина, β - и p120-катенина предшествует развитию регионарных метастазов. Экспрессия Р-кадгерина клетками опухоли остается высокой на любой стадии регионарного метастазирования, но существенно увеличивается к стадии N2 (91% случаев). Таким образом, механизмы, приводящие к экспрессии Р-кадгерина, усиливаются по мере развития опухолевого процесса. Выявлено также, что количество случаев, экспрессирующих виментин увеличивается на стадии N2 (84% случаев), что является подтверждением реализации ЭМП и приобретением опухолевыми клетками способности к миграции, являющейся одним из условий развития метастазов.

Таблица 4

Экспрессия эпителиальных кадгеринов и ассоциированных молекул при инвазивном дольковом раке молочной железы с разными стадиями регионарного метастазирования по сравнению со всеми случаями инвазивного долькового рака молочной железы

Показатели с измененной экспрессией	N0, n (%)	N1, n (%)	N2, n (%)
Е-кадгерин	9 (7%)	2 (4%)	0 (0%)
Р-кадгерин	109 (86%)	47 (84%)	23 (91%)
β -катенин	85 (67%)	27 (48%)	14 (55%)
p120-катенин	107 (84%)	34 (60%)	11 (45%)
виментин	89 (70%)	38 (68%)	21 (84%)

При изучении инвазивного долькового рака молочной железы со стадией регионарного метастазирования N1 выявлена взаимосвязь между цитоплазматической экспрессией β - и p120-катенинов ($V=0,46$, $p<0,05$). Для данной группы случаев показано, что в присутствии эстрогенового рецептора в 70% случаев не происходит высвобождения β -катенина из кадгерин-катениновых комплексов ($V=-0,40$, $p<0,05$), т.е. происходит частичная дезактивация эстрогеновым сигнальным путем цитоплазматической транслокации β -катенина преимущественно за счет блокирования гена CDH3 и экспрессии Р-кадгерина. Для данной группы исследования также показано, что в присутствии тирозинкиназных рецепторов (HER-2/neu) в большинстве случаев (69%) не происходит цитоплазматической транслокации p120-катенина ($V=-0,47$, $p<0,05$). Экспрессия виментина и Р-кадгерина достоверно не менялась по сравнению с группой без метастазов в лимфатические узлы. Достоверной взаимосвязи экспрессии виментина с другими параметрами для данной группы опухолей не выявлено.

При изучении инвазивного долькового рака молочной железы со стадией регионарного метастазирования N2 выявлена коэкспрессия Р-кадгерина и виментина в 91% случаев, а также взаимосвязь изучаемых признаков ($V=0,67$, $p<0,05$). Увеличение количества случаев с aberrантной экспрессией Р-кадгерина (на 5% ($p<0,05$) по сравнению с группой с отсутствием

метастазов и на 9% ($p<0,05$) по сравнению с общей группой), а также с экспрессией виментина (на 14% ($p<0,05$) по сравнению с группой с отсутствием метастазов и общей группой), а также высокая степень корреляции и коэкспрессии данных молекул, по-видимому, может являться признаком вероятного развития регионарных метастазов. Кроме того, экспрессия виментина связана с экспрессией p120-катенина ($V=-0,5$, $p<0,05$). Можно предположить, что высвобождение p120-катенина из кадгерин-катениновых комплексов запускает каскад сигнальных путей, приводящих к метастазированию. Однако самое большое количество случаев с цитоплазматической экспрессией p120-катенина (84%) наблюдается при инвазивном дольковом раке молочной железы с отсутствием метастазирования, в то время как число соответствующих случаев инвазивного долькового рака молочной железы со стадией регионарного метастазирования N2 уменьшается в два раза (45%). Полученные данные позволяют предположить последовательную экспрессию p120-катенина и виментина, при этом, когда опухолевая клетка начинает экспрессировать виментин, цитоплазматическая экспрессия p120-катенина прекращается.

Экспрессия p120-катенина в цитоплазме опухолевых клеток также связана с увеличением их пролиферации ($V=0,77$, $p<0,05$). Цитоплазматическая экспрессия p120- и β -катенина являются взаимосвязанными процессами. Обе молекулы высвобождаются при разрушении кадгерин-катениновых комплексов. При этом, β -катенин участвует в активации канонического сигнального пути Wnt, одним из результатов реализации которого является увеличение уровня пролиферации опухолевых клеток.

Для данной группы исследования также выявлена взаимосвязь экспрессии рецептора эстрогена и Р-кадгерина ($V=-0,40$, $p<0,05$), что подтверждает описанный выше механизм блокирования эстрогеновым сигнальным путем гена CDH3, отвечающего за синтез Р-кадгерина.

Полученные данные позволили установить механизмы с участием Е- и Р-кадгеринов, а также ассоциированных с ними молекул β -, p120-катенинов и виментина, реализующиеся в норме и при развитии инвазивного долькового рака молочной железы, которые отражены на итоговой схеме (рис.6).

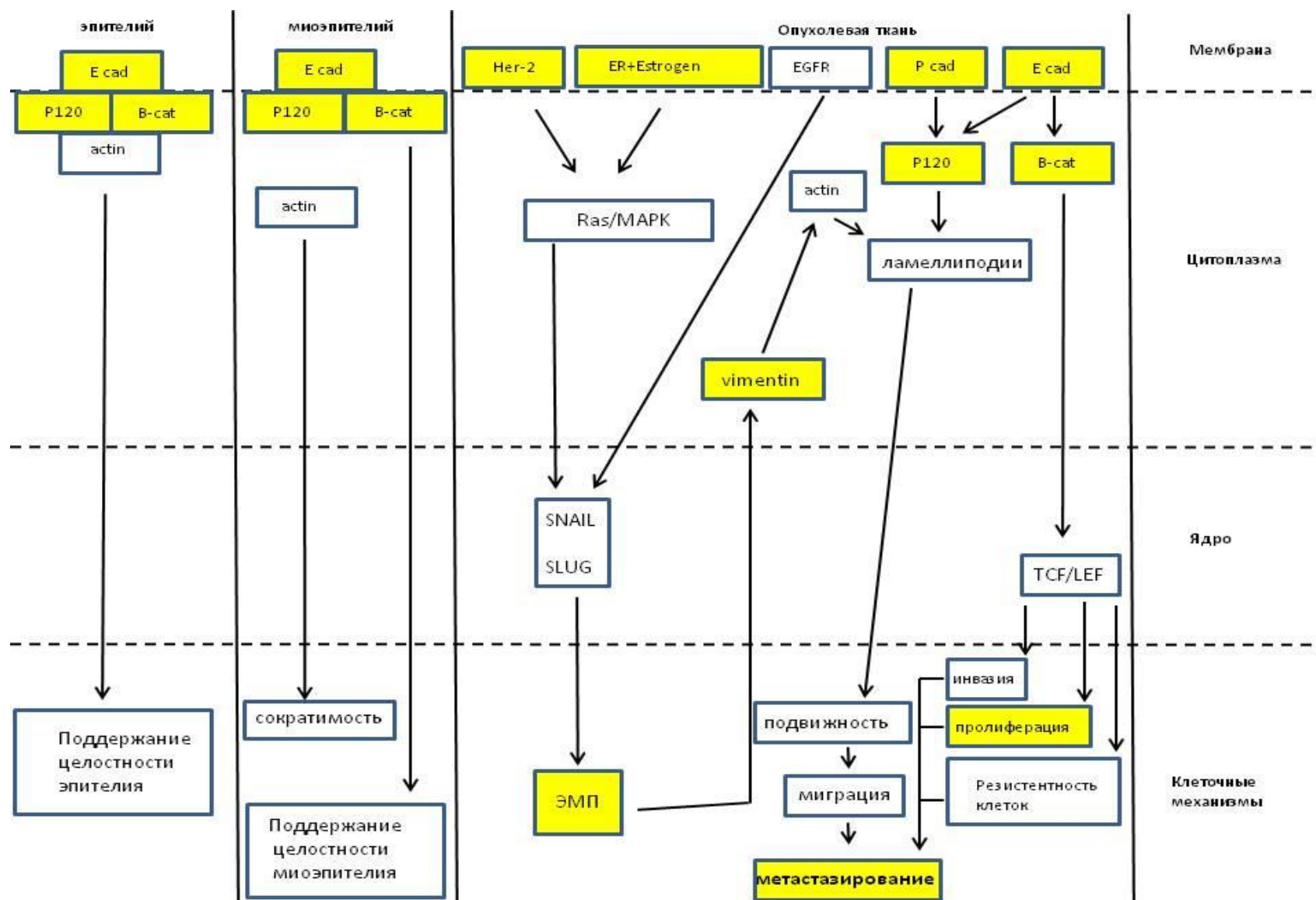


Рисунок 6. Схема роли эпителиальных кадгеринов и кадгерин-катениновых комплексов в регуляции механизмов развития злокачественной опухоли

ВЫВОДЫ

1. В клетках ткани молочной железы обнаружена экспрессия двух типов эпителиальных кадгеринов. Е-кадгерин характерен для эпителиальных клеток, Р-кадгерин – для миоэпителиальных клеток протоков и концевых отделов. Оба типа клеток экспрессируют на мембране молекулы β - и p120-катенинов, формирующих кадгерин-катениновые комплексы.
2. При развитии опухоли (на модели инвазивного долькового рака молочной железы) в большинстве случаев, в опухолевых клетках появляется коэкспрессия Е- и Р-кадгеринов, а также высвобождение молекул β - и p120-катенинов в цитоплазму опухолевых клеток, что приводит к активации внутриклеточных механизмов изменения структуры цитоскелета и уровня пролиферации.
3. Появление экспрессии Р-кадгерина, высвобождение молекул β - и p120-катенинов при развитии опухоли сопровождается активацией эпителиально-мезенхимального перехода, характеризующегося появлением экспрессии виментина в цитоплазме опухолевых клеток, а также реализацией внутриклеточных механизмов, лежащих в основе процесса метастазирования.
4. Экспрессия Р-кадгерина и виментина в опухолевых клетках увеличивается при метастазировании. При формировании регионарных метастазов опухоли цитоплазматическая экспрессия β - и p120-катенинов снижается.
5. Развитие опухоли при Люминальном В (HER-2 негативный) подтипе инвазивного долькового рака молочной железы отличается снижением частоты экспрессии Р-кадгерина.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Молекулы клеточной адгезии как биомаркеры прогноза рака молочной железы// VII Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития»/Материалы конгресса.–2013.–Том 1.–С.78-79.
2. Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М. Особенности пролиферации карцином молочной железы положительных по экспрессии HER-2/NEU и с амплификацией гена HER-2// VII Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития»/Материалы конгресса.–2013.–Том 1.–С.51-52.
3. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А. Изучение экспрессии Е-кадгерина при различных иммуногистохимических вариантах рака молочной железы// Материалы 68-ой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения».–2013.–С.282-283.
4. **Sazonov S.V., Brilliant A.A., Zasadkevich Y.M. Features of vimentin and Ki-67 expression in basal-like breast cancer// Virchows Archiv.–2013.–463:101.–P.250.**
5. **Brilliant A.A., Zasadkevich Y.M., Sazonov S.V. Characteristics of the relation between epithelial-mesenchymal transition and proliferative activity in breast carcinomas// European Journal of Cancer.–2013.–V.49/2.–P.S216**
6. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности связи эпителиально-мезенхимального перехода и пролиферативной активности в карциномах молочной железы// Вопросы онкологии/ Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов.–2013.–Т.59.–приложение к №3.–Т.1.–С.281.
7. Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В. Роль молекул клеточной адгезии гомофильных межклеточных контактов// Материалы II Межрегиональной научно-практической конференции «Клеточные технологии – практическому здравоохранению».–2013.–С.43-49.
8. **Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Экспрессия Е-кадгерина при инфильтративной карциноме молочной железы// Морфология.–2013.–№5.–С.79.**
9. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности экспрессии vimentin и Ki-67 при базальном варианте карциномы молочной железы// Злокачественные опухоли.–2013.–№2.–С.178.

10. Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В. Роль молекул клеточной адгезии Е-кадгерина в норме и при развитии злокачественной опухоли// Вестник уральской медицинской академической науки.–2013.–№4.–С.91-94.
11. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода Е-кадгерина и виментина при разных иммуногистохимических вариантах карциномы молочной железы// Уральский медицинский журнал.–2014.–№2.–С.29-32.
12. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А. Экспрессия маркеров эпителиально-мезенхимального перехода Е-кадгерина и виментина при разных иммуногистохимических вариантах карциномы молочной железы. Материалы 69-ой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения».–2014.–С.430-432.
13. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Роль Е-кадгерина в реализации сигнальных путей// Международная научная конференция «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии», сборник научных трудов, Москва.–2014.–С.108-109.
14. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А. Иммуногистохимическая характеристика маркеров эпителиально-мезенхимального перехода в разных подтипах рака молочной железы// 81-ая Всероссийская Байкальская научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины», Иркутск.–2014.–С.284-285.
15. Бриллиант А.А., Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В. Особенности пролиферации и межклеточной адгезии в карциноме молочной железы при отсутствии экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и *serbB-2*. Морфология.–2014.–Т.145.–№3.–С.36-37.
- 16.Zasadkevich Y.M., Sazonov S.V., Brilliant A.A. Expression of markers of epithelial-mesenchymal transition E-cadherin and vimentin in different immunohistochemical subtypes of breast cancer// European Journal of Cancer.–2014.–V.50.–Supp.5.–P.S68.
17. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Экспрессия маркеров эпителиально-мезенхимального перехода Е-кадгерина и виментина при разных иммуногисто-химических вариантах карциномы молочной железы// Опухоли женской репродуктивной системы.–2014.–спецвыпуск.–С.93.
18. Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В. Роль молекулы клеточной адгезии Е-кадгерина в онтогенезе человека в норме и патологии// Морфология, 2014.–Т.146.–№ 5.–С.78-82.

19. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода и метастатического потенциала случаев базальноподобного рака молочной железы// Злокачественные опухоли. Материалы XVIII Российского онкологического конгресса.–2014.–С.211
- 20. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Экспрессия эпителиальных кадгеринов и ассоциированных молекул при Люминальном А подтипе рака молочной железы.- Вестник Уральской медицинской академической науки.–2014.–№ 5.–С.76-79.**
21. Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В. Роль молекулы клеточной адгезии Е-кадгерина в онтогенезе человека// Вопросы морфологии XXI века. Сборник научных трудов: «Учение о тканях. Гистогенез и регенерация». Выпуск 4. Санкт-Петербург.–2015.–С.28-33.
22. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А. Особенности экспрессии эпителиальных кадгеринов и катенинов при инвазивном дольковом раке молочной железы с разной стадией регионального метастазирования// Сборник тезисов «Фундаментальные исследования в онкологии». Всероссийская конференция молодых ученых, Ростов-на-Дону.–2015.–С.3-4.
23. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности экспрессии Е-кадгерина и ассоциированных с ним катенинов при инвазивном дольковом раке молочной железы// Сборник трудов Петербургского онкологического форума.–2015.–С.340-341.
24. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности экспрессии Р-кадгерина при инвазивном дольковом раке молочной железы// Сборник трудов Петербургского онкологического форума.–2015.–С.341-342.
- 25. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Роль кадгеринов в норме и при развитии рака молочной железы// Архив патологии.–2015.–№2.–С.57-64.**
- 26. Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М. Особенности васкуляризации ткани карциномы молочной железы// Вестник Уральской медицинской академической науки.–2015.–№ 2.–С. 7-9.**

Засадкевич Юлия Михайловна

Роль эпителиальных E- и P-кадгеринов в реализации внутриклеточных механизмов
регуляции опухолевого роста

14.03.03. – Патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению диссертационного совета
Д 208.102.03 ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России от 07.10.2015 г.

Подписано в печать 07.10.2015. Формат 60x84 1/16
Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 115
Отпечатано в типографии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России,
г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.